

DEUX MALADIES VIRALES EMERGENTES CHEZ LES POISSONS : LA NODAVIROSE DES ESPECES MARINES ET L'HERPESVIROSE DE LA CARPE KOÏ, *CYPRINUS CARPIO**

*Richard Thiéry*¹, *Françoise Pozet*² et *Pierre de Kinkelin*³

RESUME : Les nodaviruses marines et l'herpès-virose de la carpe koï *Cyprinus carpio* sont deux entités virales qui ont émergé chez les poissons dans deux contextes épidémiologiques différents.

Depuis 15 ans, les nodaviruses sont décrites chez les larves et les juvéniles d'une trentaine d'espèces marines faisant nouvellement l'objet d'un élevage chez lesquelles elles induisent des encéphalopathies et des rétinoopathies assorties de mortalités importantes. Les espèces touchées par cette maladie ont fait ou font l'objet d'un élevage intensif dans les Caraïbes, en Asie, en Europe, dans les océans Indien et Pacifique, et plus récemment en Amérique du Nord. Les nodavirus des poissons (bétanodavirus) constituent plusieurs génogroupes reflétant l'origine géographique des souches, ce qui est en faveur de la préexistence de ces agents infectieux dans l'environnement : ils auraient ainsi émergé à la faveur de l'intensification des élevages.

Au plan épidémiologique, le cas de l'herpès-virose de la carpe koï est différent. En 1998, des mortalités très sévères, associées à des foyers de nécrose des branchies et des tissus lymphoïdes chez les sujets atteints, avec inclusions virales de type herpès, ont sévi dans les élevages de carpes commune et koï d'Israël. A quelques mois d'intervalle, des tableaux cliniques similaires étaient observés aux Etats-Unis. Un nouvel et même herpès-virus, appelé « koi herpesvirus » était alors isolé et caractérisé dans les deux pays. Dès l'année 2000, des cas de maladie étaient décrits en Allemagne, Hollande, Belgique, Royaume-Uni et Afrique du Sud. Les études génomiques réalisées sur différentes souches virales sont en faveur de la propagation d'un virus unique. La présence du virus étant probable en France du fait des mouvements commerciaux des poissons, un programme de détection est mis en place, l'infection constituant un danger pour les régions de pisciculture d'étang. L'émergence du virus de la carpe koï semble étroitement liée aux échanges de poissons ayant lieu entre différents pays.

SUMMARY : Marine nodaviruses and koi herpes virus are two viral entities that emerged in fish in two different epidemiological contexts.

Nodavirus-induced diseases have been described mainly in the larval and juvenile stages of about thirty marine species of recent aquaculture significance. The disease provokes an encephalopathy and a retinopathy in affected fish leading to high or total mortalities. The species affected by this disease were bred intensively in the Caribbean, in Asia, in Europe, in the Indian and the Pacific oceans, and more recently in North America. Fish nodaviruses (betanodaviruses) belong to several genogroups that reflect the geographical origin of the strains, thus arguing for the pre-existence of these infectious agents in the environment. Thus, they would have emerged together with the intensification of aquaculture.

* Communication présentée lors de la Journée AEEMA-AESA, 23 mai 2003

¹ AFSSA site de Brest, Technopôle Brest-Iroise, BP70, 29280, Plouzané, France

² LDA du Jura, Boulevard Théodore Vernier BP376, 3901, Lons-le-Saunier cedex, France

³ INRA, Domaine de Vilvert, Jouy-en-Josas cedex, 78352, France

The epidemiological features of herpes virosis in koi carp are different. In 1998, very severe mortalities were reported in common and koi carps in Israel. Diseased fish showed gill necrosis and herpes-like viral inclusions in the lymphoid tissues. At a few months interval, similar clinical pictures were observed in the United States. A new and single herpes virus, called « koi herpesvirus » was then isolated and characterized in the two countries. Cases of the same disease were described in 2000 in Germany, Holland, Belgium, United Kingdom and South Africa. The genomic studies carried out on various viral strains are in favour of the propagation of a single virus. As the virus may be present in France due to commercial movements of fish, a program of detection is set up, mainly because this infection could be a risk for fish reared in ponds. The emergence of koi herpes virus seems closely related to the exchanges of fish taking place between various countries.



I - INTRODUCTION

La nodavirose des poissons marins a été décrite pour la première fois il y a une quinzaine d'année, suite à l'introduction d'une espèce destinée à l'élevage à la Martinique. Bien que les recherches menées depuis aient permis de faire avancer la connaissance sur la maladie et les agents mis en cause chez plusieurs espèces, ainsi que de mettre au point des méthodes de diagnostic fiables, des infections à nodavirus sont souvent la cause de pertes économiques importantes en particulier à l'occasion de l'élevage d'espèces nouvelles d'aquaculture. A ce titre, la nodavirose des

poissons marins est une maladie que l'on peut qualifier d'émergente.

La somme de données disponibles sur l'infection herpétique de la carpe est infiniment plus faible que celle existant sur la nodavirose, cependant la survenue soudaine et l'expansion de la maladie chez une espèce de poisson faisant depuis longtemps l'objet d'un élevage et déjà titulaire d'une longue liste d'agents pathogènes, constitue un exemple d'émergence qui méritait également d'être signalé.

II - LA NODAVIROSE DES POISSONS MARINS : UNE INFECTION LIEE INITIALEMENT A L'ECOSYSTEME

1. DECOUVERTE ET SITUATION PRESENTE

Une nouvelle maladie affectant les élevages de bar *Dicentrarchus labrax* apparut à la Martinique [Bellance and Gallet de Saint-Aurin, 1988], se traduisant par un tableau clinique d'incoordination motrice et d'hyperexcitabilité aboutissant à une mortalité massive, en particulier chez les juvéniles. L'étiologie virale en fut très vite suspectée car de nombreuses particules virales non enveloppées formant des agrégats apparaissant parfois sous la forme de structures paracrystallines cytoplasmiques étaient observées en microscopie électronique, dans les neurones encéphaliques des poissons atteints. Au plan histopathologique, les poissons atteints présentaient généralement une importante vacuolisation du tissu nerveux cérébral, rétinien et médullaire. L'agent

infectieux fut dénommé « virus de l'encéphalite du bar ».

Un syndrome similaire fut ensuite décrit chez le bar en France métropolitaine [Breuil *et al.*, 1991] et l'agent étiologique fut identifié au Japon chez le Carangue *Pseudocaranx dentex* [Mori *et al.*, 1992] comme appartenant à la famille des Nodaviridés. Depuis lors, le nombre d'espèces de poissons d'élevage ou sauvages atteints par la nodavirose n'a cessé d'augmenter pour atteindre la trentaine [Munday *et al.*, 2002]. L'OIE a officiellement nommé ce syndrome « Encéphalopathie et Rétinopathie Virale » ; cependant, la dénomination « Viral Nervous Necrosis » ou VNN est encore souvent rencontrée.

Le tableau clinique s'est complété avec le temps. Les symptômes, toujours d'ordre

nerveux, différent selon l'âge, la taille et l'espèce des poissons. Les jeunes larves présentent une mortalité massive pouvant atteindre 100% sans signe clinique apparent, mais parfois, les signes nerveux caractéristiques existent : nage désordonnée dans toutes les directions, en vrille et/ou provoquée par un stimulus extérieur comme la lumière ou le bruit. Pour les juvéniles, on observe le plus souvent ce type de nage erratique, chez les espèces de poissons à symétrie bilatérale. Chez le bar *D. labrax*, un gonflement de la vessie gazeuse est parfois observé. Dans le cas des espèces de poissons plats, les individus atteints peuvent être immobiles à la surface ou bien reposer sur le fond en adoptant une position arc-boutée. Les poissons adultes présentent plus rarement les signes nerveux, bien que des infections aiguës aient également été décrites.

Au plan épidémiologique, la nodaviriose a causé de lourdes pertes dans plusieurs fermes aquacoles françaises ainsi que dans celles de plusieurs pays du pourtour méditerranéen entre 1995 et 1998. On peut noter que si les pertes subies par les pisciculteurs semblent avoir régressé ces dernières années en Europe, l'impact est toujours très important sur les espèces d'intérêt aquacole dites « nouvelles ». En outre, le dépistage du virus à partir de poissons apparemment sains est de plus en plus fréquent, grâce à l'amélioration des méthodes diagnostiques.

2. ESPECES HOTES ET DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE

La lecture du tableau I montre une prédominance de la nodaviriose chez de nombreuses espèces de poissons élevés en Asie, en particulier de mérous (*Epinephelus* sp.). Le nombre d'espèces atteintes dans cette région reflète l'importance de l'aquaculture marine dans les pays asiatiques, forts consommateurs de poissons d'élevage. Cependant, la nodaviriose a également été décrite en Europe, chez la plupart des espèces de poissons élevées en Méditerranée et en Europe du Nord, à l'exception des salmonidés, ainsi que très récemment en Amérique du Nord [Barke *et al.*, 2002 ; Curtis *et al.*, 2001 ; Johnson et Griffiths, 2002].

Pour la plupart, les cas sont décelés à l'occasion d'épisodes de mortalité dans les élevages. Cependant, plusieurs observations récentes tendent à montrer que les nodavirus peuvent également être présents chez des poissons sauvages. Ainsi, des cas cliniques ont été diagnostiqués chez deux espèces de mérous vivant en Méditerranée [Le Breton, com. personnelle], tandis qu'une souche de nodavirus a été isolée chez la Plie rouge *Pleuronectes americanus* [Barke *et al.*, 2002] pêchée dans la baie de Passamaquoddy (New Brunswick, Canada). Par ailleurs, plusieurs isolats ont été obtenus [J. Castric, Afssa Brest], et leurs séquences déterminées, à partir de poissons d'ornement d'importation en provenance de Tahiti et pêchés dans un lagon polynésien. En outre, des anticorps anti-betanodavirus ont été détectés par ELISA dans des sérums de bars *D. labrax* sauvages pêchés en Méditerranée [Breuil *et al.*, 2000]. Ces observations suggèrent que les nodavirus des poissons préexistent dans l'environnement marin et peuvent se propager à la faveur de l'intensification des élevages. Cependant, à notre connaissance, aucune campagne de prélèvement n'a été effectuée à grande échelle afin de déterminer les sources de nodavirus dans l'écosystème marin.

3. CARACTERISATION GENETIQUE DE L'AGENT ETIOLOGIQUE ET RETOMBÉES EPIDEMIOLOGIQUES

Plusieurs auteurs avaient initialement suggéré que le virus responsable de cette maladie chez différentes espèces de poissons appartient à une famille apparentée aux picornavirus, sur la base de sa taille, son site de réplication et la nature de son génome. Le virus isolé à partir du Carangue *Pseudocaranx dentex* a ensuite été caractérisé au point de vue biochimique [Mori *et al.*, 1992], ce qui a conduit ces auteurs à le classer dans la famille des *Nodaviridae*, famille virale décrite chez différents insectes. La même classification a été proposée sur la base d'études effectuées sur les virus isolés chez deux autres espèces: le bar méditerranéen et le loup du pacifique [Comps *et al.*, 1994].

Tableau I
Répartition géographique et principales espèces de poissons chez lesquelles des épisodes
d'encéphalopathie et rétinopathie virales ont été signalés (liste non exhaustive)

	Région					
	Europe		Asie		Autres	
	Eau froide	Eau chaude	Eau chaude	Eau froide	Eau chaude	Eau froide
Espèces	Morue <i>Gadus morhua</i> Flétan <i>Hippoglossus hippoglossus</i> Sole <i>Solea solea</i> Turbot <i>Scophthalmus maximus</i> Poisson loup <i>Anarchichas minor</i>	Bar <i>Dicentrarchus labrax</i> Ombrine <i>Umbrina cirrhosa</i> Maigre <i>Sciaena aquila</i> Daurade <i>Sparus aurata</i> Mérous*: <i>Epinephelus marginatus</i> , <i>Epinephelus aeneus</i>	Loup tropical <i>Lates calcarifer</i> Bar du Japon <i>Lateolabrax japonicus</i> Carangue <i>Pseudocaranx dentex</i> Mérou bossu <i>Cromileptes altivelis</i> Ombrine tropicale <i>Sciaenops ocellatus</i> <i>Oplegnathus fasciatus</i> Fugu <i>Takifugu rubripes</i> Hirame <i>Paralichthys olivaceus</i> Mérous (<i>Epinephelus</i> sp.) <i>E. akaara</i> , <i>E. tauvina</i> , <i>E. coioides</i> , <i>E. malabaricus</i> , <i>E. moara</i> , <i>E. lanceolatus</i> , <i>E. awoara</i> , <i>E. fuscogutatus</i> , <i>E. septemfasciatus</i>	Morue du pacifique <i>Gadus macrocephalus</i> Barfin flounder <i>Verasper moseri</i>	<u>Australie:</u> Loup tropical <i>Lates calcarifer</i> <u>Etats-Unis</u> <u>Californie:</u> Acoupa blanc <i>Atractoscion nobilis</i> <u>La Martinique :</u> Bar <i>Dicentrarchus labrax</i> <u>Tahiti:</u> Loup tropical <i>Lates calcarifer</i> Poisson cardinal* <i>Apogon exostigma</i> Chirurgien bagnard* <i>Acanthurus triostegus</i> <u>La Réunion</u> Ombrine tropicale <i>Sciaenops ocellatus</i>	<u>Canada:</u> Morue <i>Gadus morhua</i> Plie rouge* <i>Pleuronectes americanus</i>

* milieu naturel

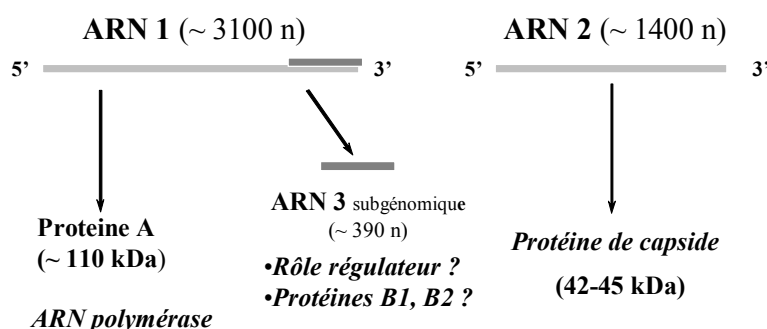
Compte tenu des différences observées sur le gène de la protéine de capsid des nodavirus chez cinq espèces de poissons élevées au Japon, par rapport à celui des nodavirus d'insectes, la création d'un nouveau genre de nodavirus a été proposé [Nishizawa *et al.*, 1995]. La famille des *Nodaviridae* a ainsi été récemment divisée en deux genres: les *alphanodavirus* pour les nodavirus d'insectes et les *betanodavirus* pour les nodavirus de poissons [Ball *et al.*, 2000].

Il s'agit de petits virus non enveloppés, d'un diamètre d'environ 30 nm, constitués de deux fragments d'ARN génomique simple brin: RNA1 et RNA2, dont les tailles respectives sont approximativement de 3100 et 1400 nucléotides. L'ARN1 code pour la ARN polymérase ARN-dépendante, alors que l'ARN2 code pour la protéine de capsid (figure 1). La comparaison des séquences du gène de la protéine de capsid de plusieurs souches de *betanodavirus* a permis de distinguer quatre génotypes [Nishizawa *et al.*, 1997]. Ces travaux

sont à l'origine de plusieurs études phylogénétiques, sur des souches isolées de plusieurs espèces de poissons et d'origines géographiques très diverses [Aspehaug *et al.*, 1999 ; Skliris *et al.*, 2001 ; Thiéry *et al.*, 1999a, 1999b]. L'ensemble de ces études montre qu'il n'existe pas de spécificité d'hôte très stricte : des souches appartenant à différents

génotypes ont parfois été décrites chez la même espèce de poissons. Par ailleurs, la répartition géographique des différents génotypes semble coïncider avec les plages thermiques dans lesquelles s'effectue l'élevage, ce qui suggère la présence de souches adaptées à différentes températures dans l'environnement marin.

Figure 1
Organisation génomique des betanadavirus



La figure 2 montre une analyse phylogénétique réalisée à l'Afssa de Brest afin de comparer la position d'isolats obtenus en Europe ou dans les DOM-TOM, par rapport aux génotypes décrits dans la littérature. Il est intéressant de constater que toutes les souches étudiées jusqu'à présent appartiennent au génotype RGNNV. Cependant, on distingue deux sous-types (Sb1 et Sb2), le sous-type Sb1 comportant uniquement des souches isolées en France métropolitaine. Plusieurs isolats possèdent la même séquence nucléique, ce qui peut le plus souvent s'expliquer par le fait qu'ils ont été obtenus sur des poissons élevés sur un même site ou bien entre sites effectuant des échanges commerciaux. Il faut noter que la séquence 02-162 a été déterminée à partir d'un fragment d'amplification obtenu par RT-PCR effectué sur un échantillon martiniquais d'ombrine tropicale, alors que la souche n'a pas pu être isolée sur culture cellulaire. Néanmoins,

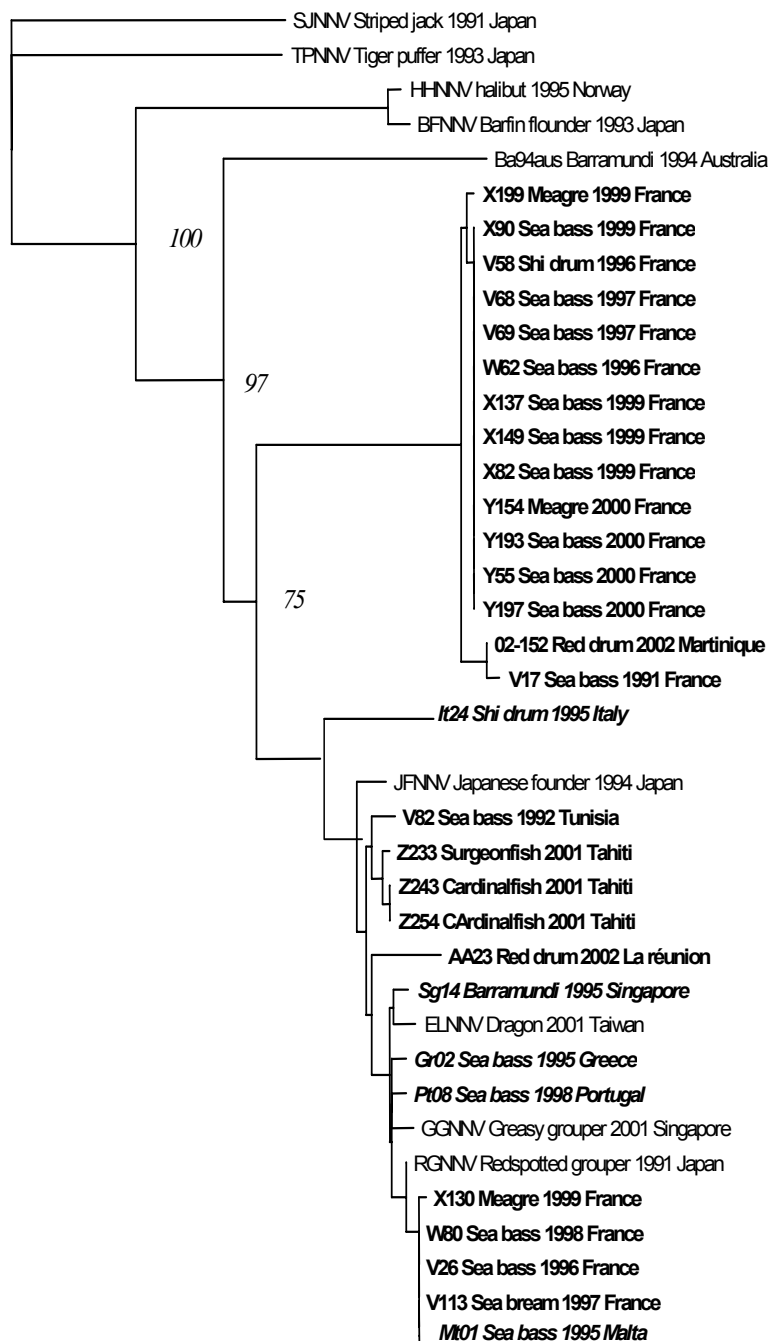
cette séquence est différente de celle d'une souche isolée chez la même espèce (AA23), dans un élevage de l'île de la Réunion, à l'occasion d'un épisode ponctuel de nodaviriose, depuis éliminée. Cette dernière observation a permis d'écarter l'hypothèse d'un lien épidémiologique entre ces deux identifications, suspecté en raison des échanges effectués entre les sites, et de conforter l'hypothèse de l'existence d'une souche de nodavirus originaire de l'océan indien. Cette dernière pouvant également se transmettre à l'occasion d'échanges commerciaux.

Ainsi, bien que la répartition géographique des différents génotypes soit très étendue, la comparaison des séquences nucléiques virales et leur analyse phylogénétique représente un outil épidémiologique intéressant lorsqu'il s'agit de déterminer l'origine d'une infection en pisciculture.

Figure 2**Phylogénie moléculaire des *betanodavirus* (gène de la protéine de capside).**

Les souches étudiées à l'Afssa Brest sont indiquées en caractère gras.

Les séquences des autres souches sont obtenues dans Genbank. Les valeurs de réassemblage aléatoire des principales branches sont indiquées en italiques (%).



0.1 nucleotide substitution

4. TRANSMISSION

Plusieurs modes de propagation de la maladie ont été étudiés. Les poissons malades ou seulement réceptifs, et leurs produits constituent des sources de virus très efficaces. Ils se trouvent dans les exploitations, mais également à l'état libre dans son voisinage dans certains cas, et pourraient ainsi fonctionner en tant que réservoirs de virus. Une démonstration expérimentale en a été faite récemment lorsque des bars sains ont été contaminés en les plaçant au contact de daurades porteuses asymptomatiques [Castric *et al.*, 2001]. L'hypothèse selon laquelle le virus pourrait se transmettre aux poissons d'élevage par l'intermédiaire de poissons sauvages vivant à proximité peut donc être émise, ce qui semble théoriquement possible dans le cas des élevages en mer. En outre, la possibilité d'une transmission par des proies vivantes (artémia, etc.) utilisées dans l'alimentation larvaire de plusieurs espèces aquacoles a été suggérée très tôt, mais n'a pas été démontrée expérimentalement. Enfin, le milieu marin semble jouer un rôle dans la persistance de l'infection dans les exploitations et leur voisinage. En effet, la transmission expérimentale aux bars est possible par différentes voies y compris par baignade (au contact avec du virus présent dans l'eau) [Péducasse *et al.*, 1999], et par ailleurs, le virus peut résister plusieurs mois dans l'eau de mer à 4°C [Péducasse, 2000].

La contagion directe est également possible. Cette dernière est horizontale ou verticale [Mushiaki *et al.*, 1994 ; Breuil *et al.*, 2002]. Cependant, il n'est pas encore démontré si le virus est présent à l'intérieur de l'œuf ou bien dans le liquide coelomique. La température de l'eau semble être un facteur permissif prédominant pour la transmission de la maladie par une souche virale donnée à une espèce pisciaire donnée. Ainsi, dans le cas du bar dont la reproduction a lieu en hiver, on peut observer des épisodes de mortalité chez les larves en

période hivernale, et chez les juvéniles en été à la faveur de l'augmentation de température de l'eau. Ceci peut s'expliquer par l'implication de différentes souches virales qui présentent des optimums de température différents.

Les échanges commerciaux entre sites d'élevage sont responsables de la transmission à distance du/des nodavirus. Dans ce contexte, une attention particulière doit être portée lors d'introduction d'espèces exotiques destinées à l'élevage ou à l'aquariophilie.

5. CONCLUSIONS

La nodaviriose des poissons marins est probablement survenue en exposant des poissons, par le biais d'installation d'élevage, à des écosystèmes comportant des sources de virus encore inconnues. Il s'agit donc bien d'une émergence, induite par l'activité anthropique. Les caractéristiques génétiques des nouveaux virus correspondaient initialement aux zones géographiques d'élevage des « nouvelles espèces ». L'existence de ces virus apparaît ainsi liée à des écosystèmes. Cependant, les échanges commerciaux pourraient bien remettre la situation initiale en question.

A l'heure actuelle, il n'existe aucun traitement contre la nodaviriose, et aucun vaccin n'a encore été mis sur le marché bien que plusieurs laboratoires aient obtenu des résultats encourageants à l'aide de protéines recombinantes. La prophylaxie s'appuie donc sur la mise en place de mesures sanitaires dans les élevages : traitement de l'eau, contrôle des lots de poissons ou des oeufs, ainsi que la sélection des géniteurs à l'aide de différentes techniques diagnostiques. L'amélioration de la lutte contre cette maladie reposera sans doute également sur les progrès qui seront réalisés en épidémiologie concernant la conservation du virus dans ses sources et les facteurs modulant la réceptivité des hôtes.

III - L'INFECTION HERPETIQUE DE LA CARPE KOÏ *CYPRINUS CARPIO*: UNE MALADIE LIEE A L'ESPECE ANIMALE HOTE

1. DECOUVERTE ET SITUATION ACTUELLE

Jusqu'à l'année 2000, un seul virus de la famille des *Herpèsviridae* était connu chez la carpe: celui de l'agent d'une maladie provoquant des papillomes cutanés et branchiaux, désignée improprement sous le nom de « variole », le nom officiel du virus étant « cyprinids herpesvirus 1 (CHV1) » classé dans le genre provisoire des « ictalurid herpes-like virus ». Cependant, des signes de l'existence d'une nouvelle virose de la carpe apparaissaient en 1999 : Ariav la mentionnait en Israël tandis qu'en Allemagne, Neukirch *et al.* [1999] isolaient en culture cellulaire un virus indéterminé à partir de lésions de branchite d'une carpe koï. Bretzinger *et al.* [1999] publiaient pour leur part des électromicrographies de virions évoquant des herpèsviridés dans des sections de cellules branchiales d'une carpe atteinte d'un syndrome cutané-branchial mortel dont ils signalaient la contagiosité par infection expérimentale.

Le syndrome en question sévissait en eau chaude ($T > 20^{\circ}\text{C}$). Les signes cliniques en étaient des altérations du comportement

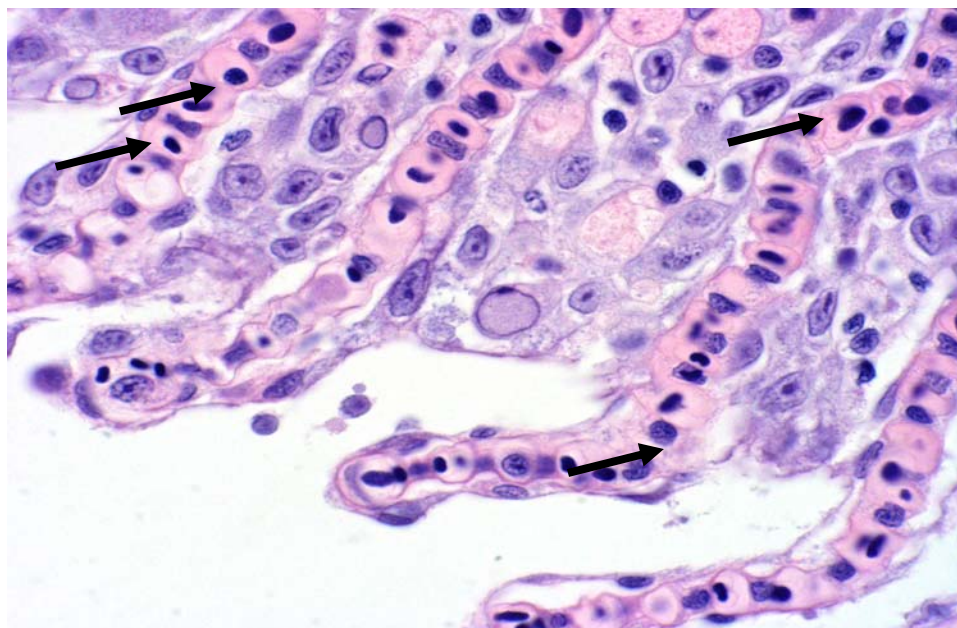
alimentaire (inappétence), relationnel (léthargie, nage en surface, incoordination motrice), respiratoire (hyperventilation), suivis d'atteinte de l'intégrité corporelle se traduisant par une congestion branchiale suivie de l'apparition d'îlots de branchite nécrosante, d'une hypersécrétion de mucus. Une décoloration tégumentaire était possible associée à des zones congestives diffuses et à une exophthalmie. Les lésions macros-copiques internes se limitaient à un œdème facultatif. En revanche, la mortalité peut être très rapide et son taux souvent dépasser 70%. Les cas décrits sont apparus aussi bien dans le commerce de détail que sur des plans d'eau d'ornement.

C'est à partir de sujets présentant le tableau clinique précédent qu'un même virus présentant la morphologie des herpèsviridés fut isolé en culture cellulaire et que les inclusions nucléaires éosinophiles inhérentes à l'infection par ces virus étaient observées dans les reins, la rate et les branchies (figure 3) des malades [Hedrick *et al.*, 2000].

Figure 3

Inclusions nucléaires éosinophiles (flèches) dans l'épithélium branchial d'une carpe koï infectée par le KHV

(Photographie : Dr R. P. Hedrick, Université de Californie, Irvine, USA)



Les sujets étaient des carpes d'une exploitation israélienne (mai 1998) et celles de détaillants de poissons du centre des USA (août 1998). La responsabilité étiologique du virus était en même temps établie expérimentalement ainsi que son caractère contagieux.

A partir de cette époque, la maladie semble s'être simultanément répandue dans différents pays d'Europe, liée préférentiellement aux carpes d'ornement (koï) et à leur commerce. Elle est signalée en Belgique [Body *et al.*, 2000], au Royaume-Uni (un cas sur carpe commune et deux cas sur koï importées d'Israël et de Malaisie) [Way *et al.*, 2001] et aux Pays-Bas [Haenen 2002]. Des informations non publiées émanent également du Danemark, d'Italie et de pays d'Europe de l'est. Pour l'instant, la présence du virus n'a pas été confirmée en France⁴, mais un programme de détection est mis en place, l'infection constituant un danger pour les régions de pisciculture d'étang. Le laboratoire de l'Afssa Brest et le LDA du Jura sont en mesure d'identifier le virus.

Une entité pathologique nouvelle avait donc fait son apparition.

2. ETUDES SUR LE VIRUS ET CONSEQUENCES EPIDEMIOLOGIQUES

Le virus apparaît sous la forme de virions sphériques d'un diamètre de 180-230 nm pourvus d'une enveloppe entourant une nucléocapside isométrique de 110 nm de diamètre. Cette morphologie correspond bien à celle des herpès-viridés [Hedrick *et al.* 2000]. Le virus de la carpe koï (KHV) diffère du CHV1 par son pouvoir pathogène, son spectre de cultures cellulaires sensibles - il exige de nouvelles lignées issues de la koï - et par son antigénicité en immunofluorescence [Hedrick *et al.*, 2000]. Le KHV comporte 31 polypeptides dont certains ont une mobilité relative commune avec CHV1, mais leur profil protéidique général est différent [Gilad *et al.*, 2002]. Les deux virus sont également distinguables par l'analyse des fragments de restriction de l'ADN, et des amorces développées à partir de la séquence d'un fragment de restriction reconnaissent

spécifiquement le KHV [Gilad *et al.*, 2002]. L'obtention des fragments d'ADN conduit à estimer la taille du génome à environ 150 kb [Gray *et al.*, 2002]. L'utilisation de ces différentes méthodes ne révèle pas de différence entre les isolats de KHV d'origine israélienne et américaine [Hedrick *et al.*, 2000; Gilad *et al.*, 2002] et entre ceux issus de cas de maladie survenus en Californie [Gray *et al.*, 2002].

Les données actuelles sont donc en faveur d'une unicité de l'agent étiologique.

3. TRANSMISSION ET CONSEQUENCES EPIDEMIOLOGIQUES

Les poissons vivants infectés de façon inapparente ou avec traduction clinique semblent constituer les sources de virus les plus fréquentes, et compte tenu de la récurrence des infections herpétiques, il est probable que les animaux guéris constituent un danger persistant à long terme ; le dépistage par PCR va d'ailleurs dans ce sens [Gray *et al.*, 2002]. Le virus est évidemment présent dans les cadavres, les produits d'origine pisciaire et le milieu, mais la persistance de son pouvoir infectieux n'est pas connue. Elle est présumée courte du fait de la nature du virus.

La contagion directe est facilitée par les contacts physiques entre animaux du fait de la cohabitation dans des habitats de volume restreint (aquariums, bassins d'ornement) ou du comportement grégaire de la carpe. Le confinement facilite également la contagion indirecte, le virus étant émis dans un volume d'eau restreint d'ailleurs la transmission de la maladie par l'eau infectée est facile [Hedrick *et al.*, 2000]. Les éléments précédents suggèrent que le moyen le plus efficace de transmission à distance entre installations sans communication naturelle de type bassin versant, soit le transfert de sujets infectés au contact de sujets indemnes. Le commerce du poisson d'ornement est évidemment actif en matière de transferts aux plans national et international, sans préjudice de l'activité propre des amateurs.

⁴ Postérieurement à la soumission de ce manuscrit, la présence du virus KHV a été détectée par PCR sur deux échantillons de carpes Koï, datant de 2001 et issu de deux sites français différents. Les poissons présentaient en outre des signes de nécrose branchiale.

Seule l'espèce carpe *Cyprinus carpio* (races : carpes commune, koï, miroir et cuir) semble sensible au virus. En effet, d'autres espèces présentes dans l'environnement lors d'épizooties n'ont pas manifesté de signes cliniques (notamment l'esturgeon et le carassin). Cependant, leur réceptivité dans des conditions expérimentales n'a pas été éprouvée. L'observation de la maladie clinique se produit préférentiellement à des températures $\geq 20^{\circ}\text{C}$.

Comme la carpe est l'objet d'un élevage multiséculaire et qu'elle constitue en même temps un animal de compagnie en tant que poisson d'ornement, il apparaît hautement improbable que l'existence d'un brutal syndrome cutané-branchial à issue fatale ait pu échapper aux nombreux observateurs potentiels de ces poissons, s'il était survenu avant les dates auxquelles il a été signalé les premières fois. Une entité contagieuse a donc bien émergé. De plus, la carpe est un poisson d'origine tropicale introduit en Europe depuis longtemps et toutes les espèces qu'il y a côtoyées, ne l'avaient pas mis en rapport avec un virus d'eau chaude comme le KHV. Ces

éléments orientent vers la possibilité qu'une carpe provenant d'un pays à climat chaud ait apporté le virus. La carpe koï est un candidat plausible quand on sait que l'aquaculture israélienne en produit.

4. CONCLUSIONS

Dans l'émergence du virus de la carpe koï, des poissons que l'on pensait bien connaître depuis longtemps, mais porteurs d'un virus encore inconnu chez cet hôte, ont été placés dans des milieux qui en étaient indemnes et la maladie s'est révélée. Sous l'angle de l'activité du poisson d'ornement, des mesures d'ordre sanitaire, étayées par des techniques de dépistage, devraient permettre le recul de la maladie qui, sans forcément toucher de grands effectifs, se montre particulièrement coûteuse quand on sait que le prix d'une carpe koï de 2 kg atteint facilement 450 €. En revanche, le risque de la maladie pour la carpiculture demeure et nécessite une surveillance car, même si les étangs concernés ne connaissent pas un climat tropical, ils passent souvent deux mois à des températures moyennes $> 20^{\circ}\text{C}$.

IV - CONCLUSION GENERALE

Dans le cas des nodaviroses comme dans celui de l'infection herpétique de la carpe koï, des infections survenues chez des poissons ont révélé des virus dont on ne soupçonnait pas l'existence et qui ont eu dans les deux cas des impacts significatifs aux plans sanitaire et économique. Ces faits apparaissent conformes à une situation d'émergence. Dans celle des nodaviroses, les sources de virus présentes dans des écosystèmes ont contaminé des poissons dont on ignorait la sensibilité et qui se trouvaient placés au contact des sources de

virus dans des installations d'élevage nouvellement créées ; le poisson sensible était allé vers le virus. Dans l'émergence de l'infection de la carpe koï, des poissons d'une espèce bien connue, porteurs d'un virus inconnu, ont été placés au contact de sujets sensibles de la même espèce : le virus est allé vers le poisson sensible. Ces deux maladies animales se sont révélées à la suite d'une intervention anthropique, comme souvent lors d'émergence ; les viroses des poissons ne font pas exception.

BIBLIOGRAPHIE

Ariav R., Tinnan S. and Bejerano I. - First report of newly emerging viral disease of *Cyprinus carpio* species in Israel – In: Abstract book of the IXth International Conference of the European Association of Fish Pathologists: Fish and shellfish diseases. Rhodes, Grèce, 1999, P-151.

Aspehaug V., Devold M. and Nylund A. - The phylogenetic relationship of nervous

necrosis virus from halibut (*Hyppoglossus hyppoglossus*). *Bull. Europ. Asso. Fish Pathol.*, 1999, **19**, 196-202.

Ball L.A., Hendry D.A., Jonshon J.E., Ruckert R.R. and Scotti P.D. - Family *Nodaviridae*. In: Virus taxonomy. Seventh report of the international committee on taxonomy of viruses, Van Rengenmortel M.H.V. (Ed) Academic press, New York. 2000, 747-755.

- Barke D.E., MacKinnon A.M., Boston L., Burt M.D., Cone D.K., Speare D.J., Griffiths S., Cook M., Ritchie R. and Olivier G. - First report of piscine nodavirus infecting wild winter flounder *Pleuronectes americanus* in Passamaquoddy Bay, New Brunswick, Canada. *Dis. Aquat. Organ.*, 2002, **49**, 99-105.
- Bellance R. and Gallet de Saint-Aurin D. - L'encéphalite virale du loup de mer. *Caraïbes Médical*, Avril, Mai, Juin, 1988, 105-114.
- Body A., Liefbrig F., Charlier C., and Collard A. - Isolation of virus-like particles from koi (*Cyprinus carpio*) suffering gill necrosis. *Bull. Europ. Asso. Fish Pathol.*, 2000, **20**, 87-88.
- Breuil G., Bonami J.R., Pépin J.F. and Pichot Y. - Viral infection (Picorna like virus) associated with mass mortalities in hatchery-reared sea bass *Dicentrarchus labrax* larvae and juveniles. *Aquaculture*, 1991, **97**, 109-116.
- Breuil G., Pépin J.F., Boscher S. and Thiéry R. - Experimental vertical transmission of nodavirus from broodfish to eggs and larvae of the sea bass, *Dicentrarchus labrax* (L.). *J. Fish Dis.*, 2002, **25**, 697-702.
- Breuil G., Pépin J.F., Castric J., Fauvel C. and Thiéry R. - Detection of serum antibodies against nodavirus in wild and farmed adult sea bass: application to the selection of broodstock in sea bass hatcheries. *Bull. Europ. Assoc. Fish Pathol.*, 2000, **20**, 95-100.
- Bretzinger A., Fischer-Scherl T., Oumouna M., Hoffman R., Truyen U. - Mass mortalities in koi, *Cyprinus carpio*, associated with gill and skin disease. *Bull. Eur. Assoc. Fish. Pathol.*, 1999, **19**, 182-185.
- Castric J., Thiéry R., Jeffroy J., de Kinkelin P. and Raymond J.C. - Sea bream *Sparus aurata*, an asymptomatic contagious fish host for nodavirus. *Dis. Aqua. Org.*, 2001, **47**, 33-38.
- Comps M., Pépin J.F. and Bonami J.R. - Purification and characterization of two fish encephalitis viruses (FEV) infecting *Lates calcarifer* and *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture*, 1994, **123**, 1-10.
- Curtis P.A., Drawbridge M., Iwamoto T., Nakai T., Hedrick R. P. and Gendron A.P. - Nodavirus infection of juvenile white seabass, *Atractoscion nobilis*, cultured in southern California: first record of viral nervous necrosis (VNN) in North America. *J. Fish Dis.*, 2001, **24**, 263-272.
- Gilad O., Yun S., Andree K.B., Mark A., Adkison M.A., Zlodkin A., Bercovier H., Eldar A. and Hedrick R.P. -Initial characteristics of koi herpesvirus and development of polymerase chain reaction assay to detect the virus in koi, *Cyprinus carpio koi*. *Dis. Aquat. Org.*, 2002, **48**, 101-108.
- Gray W.L., Mullis L., Lapatra S.E., Groff J.M., Goodwin A. - Detection of koi herpesvirus DNA in tissues of infected fish. *J. Fish Dis.*, 2002, **25**, 171-178
- Haenen O., Way K., Schlotfeldt H.-J., Liefbrig F. Bovo G. , and Ariel E. - Update of koi herpes virus story since its introduction to the EU. Communication au 6^{ème} meeting annuel des laboratoires de référence nationaux européens, 2002.
- Hedrick R.P., Gilad O., Yun S., Spangenberg J.V., Marty G.D., Nordhausen R.W., Kebus M.J., Bercovier H., Eldar A. - A herpesvirus associated with mass mortality of juvenile and adult koi, a strain of common carp. *J. Aquat. Anim. Health*, 2000, **12**, 44-57.
- Hoffmann R.W., Just F. and El-Matbouli M. - Koi herpesvirus infection in koi and common carp in Germany - In: Abstract book of the Xth International Conference of the European Association of Fish Pathologist: Fish and shellfish diseases. Dublin, Ireland, 2001. O-131.
- Johnson S.C., Sperker S.A., Leggiadro C.T., Groman D., Griffiths S.G., Ritchie R.J., Cook M.D. and Cusack R. - Identification and characterization of a piscine neuropathy and nodavirus from juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua*). *J. Aquat. Anim. Health*, 2002, **14**, 124-133.
- Neukirch M., Bottcher K., Sumrarn Bunnajirakul - Isolation of a virus from koi with altered gills. *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol.*, 1999, **19**, 221-224.
- Mori, K., Nakai, T., Muroga, K., Arimoto, M., Mushiake, K. and Furusawa, I. - Properties of a new virus belonging to *nodaviridae* found in larval striped jack (*Pseudocaranx dentex*) with nervous necrosis. *Virology*, 1992, **187**, 368-371.
- Munday B., Kwang J. and Moody N. - Betanodavirus infection of teleost fish: a review. *J. Fish Dis.*, 2002, **25**, 127-142.
- Mushiake K., Nishizawa T., Nakai T., Furusawa I. and Muroga K. - Control of VNN in striped jack: selection of spawners based on the detection of SJNNV gene by polymerase

- chain reaction (PCR). *Fish Pathol.*, 1994, **29**, 177-182.
- Nishizawa T., Furuhashi M., Nagai T., Nakai T. and Muroga K. - Genomic classification of fish nodaviruses by molecular phylogenetic analysis of the coat protein gene. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1997, **63**, 1633-1636.
- Nishizawa T., Mori K., Furuhashi M., Nakai T., Furusawa I. and Muroga K. - Comparison of the coat protein genes of five fish nodaviruses, the causative agents of viral nervous necrosis in marine fish. *J. Gen. Virol.*, 1995, **76**, 1563-1569.
- Péducasse S. - Caractérisation du nodavirus, pathogénie et épidémiologie expérimentale de la nodaviriose ou de l'encéphalopathie et rétinopathie virales chez le bar juvénile *Dicentrarchus labrax* (L.). Thèse de doctorat, Université de Montpellier II, Montpellier, France, 2000.
- Skliris G.P., Krondiris J.V., Sideris D.C., Shinn A.P., Starkey W.G. and Richards R.H. - Phylogenetic and antigenic characterization of new fish nodavirus isolates from Europe and Asia. *Virus Res.*, 2001, **75**, 59-67.
- Thiéry R., Arnauld C., Boscher S. and Castric J. - Genotyping of nodavirus isolates from sea bass *Dicentrarchus labrax*: implication on PCR-based diagnosis. In: Abstract book of the IXth International Conference of the European Association of Fish Pathologist: Diseases of Fish and shellfish. Rhodes, Greece, 1999a, P-148.
- Thiéry R., Arnauld C. and Delsert C. - Two different isolates of seabass (*Dicentrarchus labrax*) nervous necrosis virus with distinct genomes. *J. Fish Dis.*, 1999b, **22**, 201-208.
- Way K., Le Deuff R.M., Ecclestone L., Feist S.W., Dixon P.F., Wildgoose W.H. and Hedrick R.P. - Isolation of a herpesvirus during disease outbreaks in adult koi carp, *Cyprinus carpio*, in the UK. In: Abstract book of the Xth International Conference of the European Association of Fish Pathologist: Fish and shellfish diseases. Dublin, Irlande, 2001, O-129.



Remerciements

Les auteurs remercient J. Castric (Afssa site de Brest) pour sa lecture critique du manuscrit, ainsi que J. Cabon, J. Cozien et S. Kerbart – Boscher pour leur participation dans la production ou le séquençage de certaines souches de nodavirus présentées figure 2. R. P. Hedrick (U. Californie, Irvine, USA) est également chaleureusement remercié pour la photographie présentée figure 3.